

学 位 論 文 の 内 容 の 要 旨

Vina Yanti Susanti 印

Sirt1 Overexpression in POMC Neurons Partially Rescues the Obese Phenotype Induced by Insulin-resistant Constitutively-nuclear FoxO1 in Male Mice

(POMC ニューロンにおける Sirt1 過剰発現は、インスリン抵抗性核内滞留型 FoxO1 による体重増加を改善する)

【背景と目的】

肥満はエネルギーの摂取と消費のアンバランスによって生ずる。エネルギーバランス制御の中枢として視床下部が知られている。視床下部弓状核には摂食抑制に働く POMC ニューロンと、摂食促進に働く NPY ニューロン及び AgRP ニューロンが存在し、エネルギー摂取を調節している。

私達の研究グループでは、NAD⁺依存性の脱アセチル化酵素 Sirt1 と、転写因子 FoxO1 に着目してこれまで肥満に対する研究を行ってきた。視床下部でのインスリンシグナルが摂食制御に関与することはすでに報告されているが、FoxO1 はその下流でリン酸化を受けて核外に移行し不活性化される転写因子である。また視床下部での FoxO1 過剰発現は AgRP 遺伝子の発現レベルを増加させ、一方で Pomc 遺伝子の発現を減少させる。リン酸化部位のアミノ酸配列を置換して恒常的に活性を持たせた核内滞留型 FoxO1 (CN-FoxO1) を POMC ニューロン特異的に過剰発現させたマウスは過食による体重増加を起こすことが報告されている。

一方、視床下部での Sirt1 の発現量は絶食によって減少し、摂食によって増加することが報告されている。また FoxO1 は Sirt1 の基質の 1 つであり、脱アセチル化によって活性を制御される。またアデノウイルスを用いた視床下部内側基底部への Sirt1 の強制発現は、CN-FoxO1 によって惹起される過食と肥満を改善することを過去に私達は報告した。

そこで本研究では POMC ニューロン特異的な Sirt1 の過剰発現が、同じく POMC ニューロン特異的 CN-FoxO1 ノックインマウスで見られる肥満の表現型を改善するかを検討した。

【方法】

Cre-loxP システムを用いて、POMC-Cre マウスと Rosa26-CN-FoxO1 マウスあるいは Rosa26-Sirt1 マウスの交配によって、POMC ニューロン特異的 CN-FoxO1 KI マウス (CN-FoxO1 KI マウス) と POMC ニューロン特異的

Sirt1 KI マウス (Sirt1 KI マウス) を作製した。2つの KI マウスの掛け合わせによって、POMC ニューロン特異的に CN-FoxO1 と Sirt1 の両方を過剰発現したマウス (DKI マウス) を得た。それぞれの遺伝子改変マウスと野生型マウスの経時的な体重増加を追跡し、25から26週齢での摂食量を測定した。その後28週齢の時点で酸素消費量と二酸化炭素産出量を測定し、呼吸交換比を算出した。

【結果と考察】

野生型マウスと比べて雄の CN-FoxO1 KI マウスは肥満の表現系を示し、Sirt1 KI マウスではやせの表現型が確認された。DKI マウスでは CN-FoxO1 KI マウスと比べて体重増加が有意に抑えられ、肥満の表現型の改善が見られた。また CN-FoxO1 KI マウスでは脂肪重量が増加したが DKI マウスでは野生型と差は見られなかった。摂食量は野生型と遺伝子改変マウスの間で変化はなかった。一方で CN-FoxO1 KI マウスでは酸素消費量の減少傾向が認められたが、DKI マウスではこれが改善された。これらの結果から、DKI マウスでの肥満改善は、基礎代謝の亢進による可能性が示唆された。褐色脂肪でのミトコンドリア関連遺伝子の発現量を測定した結果、Ucp-1 と Pgc1-alpha が CN-FoxO1 KI マウスに対して DKI マウスでは増加傾向が見られた。

POMC ニューロン特異的 FoxO1 欠損マウスでは POMC ニューロン数が減少することが他の研究グループから報告されている。そこで CN-FoxO1 KI マウスの POMC ニューロン数を測定したところ、既報とは異なり過剰発現したこのマウスでも減少傾向が認められた。DKI マウスではその一部回復が見られた。FoxO1 による POMC ニューロン数の制御が明らかとなったが、その詳細な機能に関してはさらなる解析が必要とされる。

過去の報告から FoxO1 のアセチル化はその蛋白質構造の安定性と局在を制御することが知られている。in vitro の系で検討した結果、Sirt1 の過剰発現は FoxO1 のアセチル化を阻害して FoxO1 蛋白の発現量を減少させるが、CN-FoxO1 の細胞質への移行は認められなかった。

【結論】

POMC ニューロンにおける Sirt1 過剰発現は FoxO1 のアセチル化の阻害と蛋白量の減少によって、CN-FoxO1 に引き起こされる体重増加を改善した。また Sirt1 が FoxO1 を介して中枢のインスリン抵抗性に起因する肥満を一部抑制することが示唆された。